

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTSCHRIFT



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 290 662 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
In Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 P 7/62

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 12 P / 336 251 5 (22) 22.12.89 (44) 06.06.91

(71) siehe (73)
(72) Merker, Steffen, Dipl.-Biochem.; Böhme, Monika, Dr. Dipl.-Chem., DE
(73) VE Forschungszentrum Biotechnologie Berlin, Alt Straßau 62, O - 1017 Berlin, DE

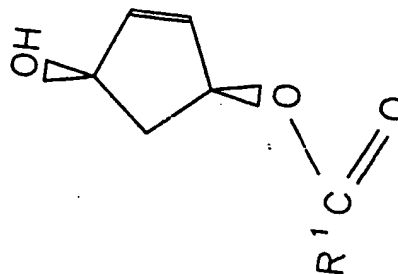
(54) Verfahren zur Herstellung von (1S, 4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen

(55) Herstellung; stereoselektive Synthese; enzymkatalysierte Veresterung; (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene; cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en; Carbonsäurederivat; organische Lösungsmittel; optisch aktive Prostaglandine; Lipase, Schweinepankreas-Lipase; Pankreatin; Enantiomerenreinheit; tiefe Temperaturen; Ausbeutesteigerung

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I), in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet. Diese Verbindungen dienen als Ausgangsmaterial für die Synthese optisch aktiver Prostaglandine und Prostaglandinderivate sowie für die Synthese cyclopentanolder Naturstoffe und deren Abkömmlinge. Erfindungsgemäß werden

(1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene durch enzymkatalysierte Veresterung von cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en (II) mit Carbonsäurederivaten der allgemeinen Formel (III) in organischen Lösungsmitteln hergestellt, wobei die Ausbeute am

(1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) erfindungsgemäß bei Temperaturen unter 0°C unter ansonsten gleichen Bedingungen höher liegt als bei bekannten Verfahren zur enzymatischen Veresterung. Die gewünschten Produkte liegen in hohem Enantiomerenüberschuß vor. Formel (I)



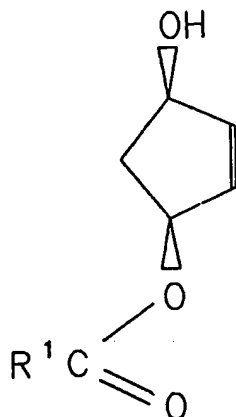
ISSN 0433-6461

5 Seiten



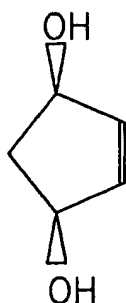
Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I)



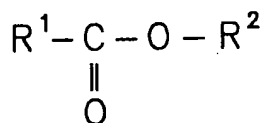
(I)

in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet, dadurch gekennzeichnet, daß cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en der Formel (II)



(II)

mit Carbonsäurederivaten der allgemeinen Formel (III),



(III)

in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl und in der R² Wasserstoff, Alkyl, Alkenyl, Aryl oder Acyl bedeutet, in einem organischen Lösungsmittel mit einem Wassergehalt zwischen 0 und 20 Vol.-% in Gegenwart einer Lipase oder eines lipasehaltigen Präparates bei Temperaturen zwischen 0 und -100°C umgesetzt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktionstemperatur 0 bis -70°C beträgt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipase eine Lipase tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges bzw. als lipasehaltiges Präparat ein lipasehaltiges Präparat tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges verwendet wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipase tierischen Ursprunges rohe Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin verwendet wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß ein organisches Lösungsmittel mit einem Wassergehalt zwischen 0 und 5 Vol.-%, insbesondere ein wassermischbares organisches Lösungsmittel, verwendet wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß als organisches Lösungsmittel Tetrahydrofuran, Diethylether oder Toluol verwendet wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Carbonsäurederivat ein Carbonsäureester mit Zugabe einer organischen Base verwendet wird.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß als organische Base Pyridin, Triethylamin, 4-N,N-Dimethylaminopyridin oder Imidazol verwendet wird.
9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Carbonsäurederivat ein Carbonsäureanhydrid ohne Zugabe einer Base verwendet wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I), in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet.
Der Verbindungstyp der allgemeinen Formel (I) ist Ausgangsmaterial für die Synthese optisch aktiver Prostaglandine und Prostaglandinderivate, die zur Verhütung und Behandlung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, für gynäkologische Indikationen, zur Verhütung und Behandlung von Magen- und Darmgeschwüren in der Humanmedizin sowie zur Geburten- und Brunstsynchronisation in der Tierproduktion verwendbar sind sowie für die Synthese cyclopentanoider Naturstoffe und deren Abkömmlinge.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

(1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene der allgemeinen Formel (I) waren bisher zugänglich durch asymmetrische enzymkatalysierte Hydrolyse der meso-Verbindungen cis-1,4-Diacetoxycyclopent-2-ene mittels Mikroorganismen bzw. isolierter Enzyme verschiedener Herkunft (DE-AS 2552871; S. Takano, K. Tanigawa, K. Ogasawara; J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1978 189; JP 78/005140; S. Miura, S. Kurozumi, T. Toru, T. Tanaka, M. Kobayashi, S. Matsubara, S. Ishimoto; Tetrahedron 32, 1893 [1976]; DE-OS 3439598; K. Laumen, M. Schneider; Tetrahedron Lett. 25, 5875 [1984]; Y.-F. Wang, C.-S. Chen, G. Girdeaukas, C.-J. Sih; J. Am. Chem. Soc. 106 [1984] 3695; K. Laumen, E. H. Reimerdes, M. Schneider; Tetrahedron Lett. 26, 407 [1985]; DE-OS 3620646; DD-WP 273448). Der Enantiomerenüberschuß bei diesen Reaktionen beträgt zwischen 4 bis 95%. Mit Ausnahme des in DE-OS 3620646 vorgeschlagenen Verfahrens liegen die optischen Reinheiten bei maximal 74%, d.h. zum Erhalt eines Produktes mit einem Enantiomerenüberschuß > 95% muß sich eine Reinigung anschließen, die zwangsläufig mit erheblichem Substanzverlust verbunden ist.

Bestimmte Enzyme, z. B. die Acetylcholinesterase des Zitteraals oder bestimmte Lipasen, liefern (1R,4S)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene (D. R. Daardorff, A. J. Matthews, D. S. McMeekin, C. L. Craney; Tetrahedron Lett. 27, 1255 [1986]; K. Laumen, M. P. Schneider, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1986, 1298; T. Sugai, K. Mori; Synthesis 1988 19), d.h. die optischen Antipoden von (I).

Zur Umwandlung von (1R,4S)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-en in (1S,4R)-1-Tetrahydropyranyloxy-4-hydroxycyclopent-2-en, eine Verbindung, die analog der Verbindung der allgemeinen Formel (I) in die Reihe der natürlichen Prostaglandine führt, sind dann noch zwei weitere Synthesestufen erforderlich.

Alle diese enantioselektiven Hydrolysen verlaufen im wäßrigen Medium. Das hat den Nachteil, daß es zu Problemen hinsichtlich Löslichkeit des Substrates und bei der Isolierung der Produkte kommen kann.

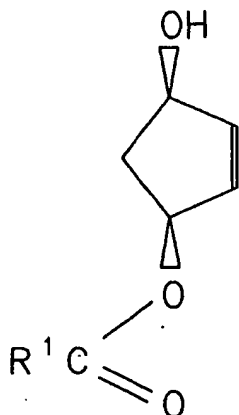
1987 wurde die Synthese von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) durch enzymkatalysierte Umesterung von cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en mit Carbonsäureestern in Gegenwart einer Base bei Temperaturen zwischen 0°C und 80°C in organischen Lösungsmitteln beschrieben (Theil, F.; Ballschuh, S.; Schick, H.; Häfner, B.; Haupt, M.; Palme, H.-J.; Schwarz, S.; 1987, DD-WP 264 707). Dieses Verfahren liefert die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) mit einem hohen Enantiomerenüberschuß. Jedoch ist die Ausbeute von höchstens 48%, die für das Verfahren bei 0 bis 80°C angegeben wird, kritikwürdig. Das gilt besonders dann, wenn man den hohen Aufwand an Energie und Zeit gerade für die gängigste, d.h. die für den fotochemischen Syntheseschritt in der Herstellung des cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-ens in Rechnung stellt.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, die enantioselektive Synthese von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) aus cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en in einem ökonomischen Verfahren, das eine signifikant höhere chemische Ausbeute als bisher bekannte Verfahren bei ebenfalls hohem Enantiomerenüberschuß des Produktes erbringt, auszuführen.

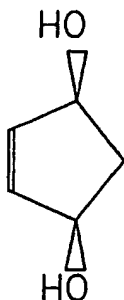
Darlegung des Wesens der Erfindung

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I)



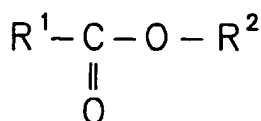
(I)

in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet, durch enzymkatalysierte Veresterung in organischen Lösungsmitteln zu finden, in dem die stereoselektive enzymatische Veresterung des cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-ens zu entsprechenden (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) mit höheren Ausbeuten verläuft als bei bekannten Verfahren. Diese Aufgabe wird gelöst, indem erfindungsgemäß die meso-Verbindung cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en der Formel (II)



(II)

(G. O. Schneek, D. E. Dunlap; Angew. Chemie 68, 248 [1956]; C. Kaneko, A. Sugimoto, S. Tanaka; Synthesis 1974, 876) mit Carbonsäurederivaten der allgemeinen Formel (III)



(III)

in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl und in der R² Wasserstoff, Alkyl, Alkenyl, Aryl oder Acyl bedeutet, insbesondere Carbonsäureestern unter gleichzeitiger Zugabe einer organischen Base wie Pyridin Triethylamin, 4-N,N-Dimethylaminopyridin oder Imidazol, aber auch Carbonsäureanhydriden ohne Zugabe einer Base in einem organischen Lösungsmittel mit einem Wassergehalt zwischen 0 und 20 Vol.-%, vorzugsweise zwischen 0 und 5 Vol.-%, insbesondere einem wassermischbaren organischen Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran, aber auch Diethylether oder Toluol in Gegenwart einer Lipase tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges oder eines lipasehaltigen Präparates tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges in freier oder immobilisierter Form, vorzugsweise von roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin, bei Temperaturen zwischen 0 und -100°C, bevorzugt zwischen 0 und -70°C umgesetzt wird. Überraschenderweise werden bei dieser Verfahrensführung (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene der allgemeinen Formel (I) mit deutlich höherer Ausbeute als in bisher bekannten Verfahren zur stereoselektiven Veresterung von cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en und mit einem hohen Enantiomerenüberschuß erhalten.

Entgegen von Aussagen der Fachliteratur, wonach die polaren bzw. wasserunmischbaren Lösungsmittel für enzymatische Reaktionen im organischen Milieu besser geeignet sind (Yu. L. Khmel'nitsky, A. Levashov, N. Klyachko, Enzyme Microb. Technol. 10, 1988, 710 und ebenda dazu zitierte Literatur) erwiesen sich für die Umsetzung unter diesen Bedingungen besonders solche wassermischbaren Lösungsmittel wie THF, aber bedingt auch Diethylether und Toluol als geeignet. Für wäßrige Medien wurde im Falle der Alkoholdehydrogenase eine temperaturabhängige Enantiomerenreinheit des Produktes der enzymatischen Reaktion bei bestimmten Substraten beschrieben (E. Keinan, F. V. Hafell, K. K. Seth, R. Lamed, J. Am. Chem. Soc., 108 [1986] 162; V. T. Pham, R. S. Phillips; L. G. Ljungdahl, J. Am. Chem. Soc., 111 [1989] 1985). In einem wäßrigen

Flüssigmembransystem ist für die estersekatalysierte hydrolytische Racematepaltung von Acetoxycyclopentenon bei zwei verschiedenen Temperaturen ebenfalls ein Unterschied in der Enantiomerenreinheit des Produktes beschrieben (E. Meyer; T. Scheper; B. Hitzmann; K. Schügerl, Biotechnol. Techn. 2 [1988] 127).

Um so erstaunlicher und unerwarteter ist es, daß im organischen Milieu bei tiefen Temperaturen statt einer Veränderung der Anantiomerenreinheit des Produktes eine Ausbeutesteigerung erfolgt.

Eine Literaturstelle oder Patentschrift für den Einsatz von Enzymen in organischen Lösungsmitteln bei Temperaturen unter 0°C zum Zwecke der Erhöhung der Ausbeute der stereoselektiven enzymatischen Reaktion wurde nicht gefunden.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll an Hand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden, ohne sie zu beschränken.

Beispiel 1

Eine Lösung von 1 g (10 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 5 ml Essigsäureanhydrid in 25 ml absolutem Tetrahydrofuran wird bei -4°C mit 5 g roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und bis zum Erreichen eines Enantiomerenüberschusses von 98% bei einer Temperatur von -4°C gerührt. Danach wird die Suspension filtriert und der Filtrückstand mit Ethylacetat gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird in wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung aufgenommen, aus der durch mehrfache oder kontinuierliche Extraktion in Ethylacetat oder ein anderes geeignetes Lösungsmittel die Produkte extrahiert werden. Die Ethylacetatlösung der Produkte wird im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird durch Flash-Chromatographie oder einfache Filtration über Kieselgel gereinigt. Man erhält 750 mg (53%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I mit R¹ = CH₃ als farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 46°C bis 48°C.

Enantiomerenüberschuß: e. e. 98%

Man erhält außerdem 736 mg (40%) cis-1,4-Diacetoxycyclopent-2-en.

Beispiel 2

Eine Lösung von 0,1 g (1 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 1 ml Trichlorethylacetat und 0,1 ml Triethylamin in 2,5 ml Tetrahydrofuran (Wassergehalt: 5%) wird bei -4°C mit 0,5 g roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 48 Stunden bei einer Temperatur von -4°C gerührt. Danach wird die Suspension filtriert und der Filtrückstand mit Ethylacetat gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum eingeeengt.

Der Rückstand wird durch Flash-Chromatographie oder einfache Filtration über Kieselgel gereinigt. Man erhält 78 mg (55%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I.

Enantiomerenüberschuß: e. e. 94%

Beispiel 3

Eine Lösung von 0,1 g (1 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,5 ml Essigsäureanhydrid in 2,5 ml absolutem Tetrahydrofuran wird bei -25°C mit 0,1 g Schweinepankreas-Lipase (SERVA) versetzt und 72 Stunden bei einer Temperatur von -25°C stehengelassen.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 85 mg (60%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I.

Enantiomerenüberschuß: e. e. 96%

Beispiel 4

Eine Lösung von 0,1 g (1 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 1,0 ml Trichlorethylacetat und 100 ml Triethylamin in 2,5 ml Tetrahydrofuran (Wassergehalt: 10%) wird bei -25°C mit 0,5 g roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 96 Stunden bei einer Temperatur von -25°C stehengelassen.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 2 liefert 87 mg (61%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I.

Enantiomerenüberschuß: e. e. 95%

Beispiel 5

Eine Lösung von 0,1 g (1 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,5 ml Essigsäureanhydrid in 2,5 ml absolutem Tetrahydrofuran wird bei -70°C mit 0,5 g roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 6 Tage bei einer Temperatur von -70°C stehengelassen.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 105 mg (74%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I.

Enantiomerenüberschuß: e. e. 96%